

**BEBERAPA PARAMETER PENGHASILAN ENZIM OLEH KULAT
Aspergillus niger MENGGUNAKAN SUBSTRAT TEPONG UBI KAYU:
PENGKULTURAN DALAM KELALANG GONCANGAN.**

Oleh

Normah Norbib, Badarulhisam Abdul Rahman, Fazilah Abdul Latif,
Mohd Nazlee Kamal, Mohd Roji Sarmidi dan Hanapi Mat.

Kumpulan penyelidikan Kejuruteraan Bioproses, Fakulti Kejuruteraan
Kimia dan Kejuruteraan Sumber Asli, Universiti Teknologi Malaysia,
Jalan Semarak, 54100 Kuala Lumpur.

Abstrak

Dalam kajian ini, kulat Aspergillus niger dikultur dalam kelalang goncangan 250ml selama 40jam menggunakan substrat tepung ubi kayu dengan mengkaji beberapa parameter yang berbeza. Didapati penghasilan enzim yang optimum oleh A. niger diperolehi apabila menggunakan 10%kepekatan substrat tepung ubi kayu (berat per isipadu), pengkulturan pada pH 3.5, 0.20g/150ml magnesium sulfat, 0.10g/150ml kalium hidrogen fosfat, 0.63g/ml amonium nitrat, 0.33g/150ml ekstrak yis, suhu pengkulturan 55 C dan saiz inokulum satu coretan. Aktiviti enzim adalah tinggi berbanding dengan lain-lain parameter yang telah dikaji.

Pengenalan

Perkembangan yang pesat dalam pembuatan minuman ringan dalam tin menyebabkan permintaan terhadap sirap dalam bentuk gula penurun samada glukosa, fruktosa atau maltosa yang menjadi asas kepada industri tersebut telah semakin meningkat.

Kanji merupakan sumber karbohidrat bagi berbagai jenis proses terutamanya pemprosesan makanan dan penghasilan alkohol. Tepong ubi kayu merupakan sumber kanji (karbohidrat) yang mudah diperolehi dan murah. Sumber ini sangat banyak didapati di Malaysia.

Apabila kanji dihidrolisiskan oleh enzim tertentu, ia akan menghasilkan gula penurun yang lebih ringkas. Proses ini juga dikenali sebagai proses pensakaridaan kanji (Beynum & Roels, 1985).

Berbagai jenis bakteria dan kulat yang boleh menghasilkan enzim pengurai kanji kepada gula penurun. Tetapi kulat spesies Aspergillus niger dan Aspergillus oryza yang paling biasa digunakan dalam penghasilan enzim secara besar-besaran (Fogarty, 1983) .

Berdasarkan kepada perkembangan industri , sumber bahan mentah yang mudah didapati dan murah, serta keupayaan mikroorganisma kulat Aspergillus niger menghasilkan enzim pengurai kanji maka kajian dtumpukan kepada mencari beberapa parameter untuk penghasilan enzim amilase dan glukosidase yang berkeupayaan untuk menghasilkan gula penurun yang tinggi. Kajian yang berterusan dan dan perkembangan dalam makmal telah menunjukkan penggunaan bahan mentah ubi kayu yang murah dan kulat Aspergillus niger dapat menghasilkan enzim pengurai kanji.

2.0 BAHAN DAN KAEDAH

2.1 Pembiakan Kulat A.niger.

Kultur stok A. niger di inokulatkan pada agar potato dekstros (PDA) dan diinkubat dalam inkubator pada 32 C selama 3 hari. Kultur ini akan dijadikan inokulum bagi penghasilan enzim seterusnya.

2.2 Media Penghasilan Bagi Pengkulturan Kelalang Goncangan.

Media penghasilan yang dikaji adalah yang menggunakan substrat tepung ubi kayu. Kesemua nutrien (kecuali kanji) (Jadual 1) dilarutkan dalam air suling secara memanaskan dan dikacau dengan pengacau bermagnet. Setelah pH ditetapkan pada 3.5 menggunakan said hidroklorik, campuran ini disterilkan menggunakan autoclaf pada 121 psi selama 15 minit. Kemudian disejukkan pada suhu bilik.

Tepung ubi kayu disterilkan didalam ketuhar pada suhu 120 C selama 2 jam. Apabila sejuk pada suhu bilik, ia dicamporkan kedalam campuran nutrien steril secara aseptik untuk membentuk media penghasilan.

Kulat A. niger di inokulatkan kedalam kelalang yang mengandungi media penghasilan tersebut. Kesemua kerja dilakukan secara aseptik didalam laminar flow. Sebagai kawalan, kelalang yang mengandungi media penghasilan tidak diinokulat dengan A. niger. Kemudian

dimasukkan kedalam inkubator bergoncang pada kadar kelajuan 150 rpm, pada suhu 35 C.

Parameter-parameter yang dikaji adalah pertama, perbezaan kepekatan substrat tepung ubi kayu iaitu A. niger dikultur menggunakan substrat pada kepekatan-kepekatan 0%, 1.0%, 5.0%, 10.0%, 15.0% dan 20.0% berat per isipadu. Kedua, pengkulturan dijalankan pada pH media yang berbeza nilainya iaitu pH 7.0, 4.5, 4.0, 3.5, 3.0, dan 2.5. Ketiga, menggunakan kepekatan magnesium sulfat yang berbeza iaitu, 0.0g, 0.05g, 0.10g, 0.20g, 0.30g dan 0.40g. Keempat, menggunakan kepekatan kalium hidrogen fosfat yang berbeza iaitu, 0.0g, 0.05g, 0.10g, 0.15g 0.20g dan 0.30g.

Parameter keempat adalah, menggunakan kepekatan amonium nitrat yang berbeza iaitu, 0.0g, 0.23g, 0.43g, 0.63g dan 0.83g. Kelima, menggunakan kepekatan sumber karbon (ekstrak yis) yang berbeza iaitu, 0.0g, 0.13g, 0.33g, 0.53g dan 0.73g. Keenam, melakukan pengkulturan pada suhu yang berbeza iaitu, 35 C, 45 C, 55 C dan 65 C. Seterusnya kesan saiz inokulum juga turut dikaji iaitu menggunakan saiz inokulum satu coretan, tiga coretan, lima coretan dan sepuluh coretan.

2.3 Analisis Sampel

Sampel yang telah diambil diempar pada 1000 rpm untuk mengasingkan larutan dengan bukan larutan. Larutan yang terasing diambil untuk dilakukan analisis kandungan protein larut, aktiviti enzim, gula penurun dan kandungan glukosa.

2.3.1 Kandungan protein larut.

Analisis protein larut dilakukan menggunakan kaedah Lowry et. al. (1951) dengan menggunakan 'bovine serum albumin' (BSA) sebagai protein piawai. Lengkuk piawai dilakukan dengan menggunakan BSA.

Sampel sebanyak 1.0 ml dicampur dengan 1.0 ml larutan reagen Lowry dan 1.0 ml air suling. Selepas dihomogenkan, campuran dibiarkan pada suhu bilik selama 20 minit dan dicampurkan pula dengan 0.5 ml larutan 'Folin ciocalteu's '. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 minit untuk tindakbalas.

Kemudian keamatan warna yang terhasil diukur secara mengukur ketumpatan optik dengan menggunakan spektrofotometer pada jarak gelombang 250 nm. Setelah itu, kepekatan protein ditentukan berdasarkan kepada lengkok piawai yang telah diperolehi terlebih dahulu.

2.3.2 Kandungan gula penurun

Kaedah untuk analisis gula penurun yang terdapat dalam cecair kultur adalah menggunakan kaedah asid dinitrosalisalik (DNS) . Kandungan gula penurun ditentukan dengan mencampurkan 3.0ml larutan DNS, 1.0ml sampel dan 1.0ml air suling.

Untuk mendapatkan graf lengkok piawai, sampel digantikan dengan glukosa yang dicairkan secara bersiri. Pengosong terdiri daripada campuran yang sama kecuali sampel digantikan dengan air suling.

Campuran digoncang dan dipanaskan dalam kukusan air 95 C selama 30 minit. Selepas disejukkan, ketumpatan optik dibaca pada jarak gelombang 575nm.

2.3.3 Pengassaian aktiviti enzim.

Kaedah pengassaian yang digunakan adalah berdasarkan kaedah oleh Yoshiki *et. al.*, (1986). Dengan menggunakan kaedah tersebut, 100mg kanji mentah dimasukkan kedalam 1.9ml penimbal sitrat-fosfat 0.05M, pH 3.5 dan 1.0ml sampel. Campuran ini dibiarkan dalam oven pada suhu 35 C selama 1.0jam. Selepas tindakbalas, kehadiran gula penurun ditentukan dengan kaedah DNS (Kaedah 2.3.2) .

3.0 HASIL

Setelah kajian dijalankan beberapa data parameter telah diperolehi.

3.1 Kepekatan substrat tepung ubi kayu.

Dari kajian didapati kepekatan substrat tepung ubikayu pada 10.0% berat per isipadu memberikan hasil yang optimum selepas 32jam pengkulturan iaitu memberikan 940 ug/ml gula penurun , 490ug/ml

protein larut dan $8.80 \text{ unit} \times 10^{-3}/\text{ml}$ aktiviti enzim berbanding dengan lain-lain kepekatan substrat yang diuji (Jadual 3).

3.2 Nilai pH yang optimum

Kajian ini juga menunjukkan pada nilai pH 3.5 memberikan hasil yang optimum selepas 42 jam pengkulturan iaitu 4820ug/ml gula penurun, 380ug/ml protein larut dan $14.80 \text{ unit} \times 10^{-3}/\text{ml}$ aktiviti enzim berbanding dengan lain-lain pH yang telah dikaji (Jadual 4).

3.3 Kepekatan magnesium sulfat.

Dari data yang diperolehi menunjukkan penggunaan kepekatan magnesium sulfat pada 0.20g/150ml memberikan hasil yang optimum selepas 34jam pengkulturan iaitu 5800ug/ml gula penurun, 408ug/ml protein larut dan $48.10 \text{ unit} \times 10^{-3}/\text{ml}$ aktiviti enzim berbanding dengan lain-lain kepekatan yang telah dikaji (Jadual 5)

3.4 Kepekatan kalium hidrogen fosfat

Berdasarkan kajian ini didapati, kalium hidrogen fosfat pada 0.1g/150ml memberikan hasil yang optimum selepas 34jam pengkulturan iaitu, 300ug/ml gula penurun, 349ug/ml protein larut dan $12.13 \text{ unit} \times 10^{-3}/\text{ml}$ aktiviti enzim berbanding dengan lain-lain kepekatan yang telah diuji (Jadual 6).

3.5 Kepekatan amonium nitrat.

Kajian ini menunjukkan bahawa kepekatan amonium nitrat pada 0.63g/ml memberikan hasil yang optimum selepas 42jam pengkulturan iaitu, 1410ug/ml gula penurun, 742ug/ml protein larut dan $48.10 \text{ unit} \times 10^{-3}/\text{ml}$ aktiviti enzim berbanding dengan lain-lain kepekatan yang telah dikaji (Jadual 7).

3.6 Kepekatan ekstrak yis sebagai sumber karbon.

Dari kajian ini diperolehi kepekatan ekstrak yis yang optimum adalah 0.33g/150ml oleh kerana hasil yang diperolehi adalah optimum iaitu,

1556ug/ml gula penurun, 472ug/ml protein larut dan 52.61 unit X 10^{-3} /ml aktiviti enzim berbanding dengan lain-lain kepekatan yang telah dikaji (Jadual 8).

3.7 Suhu pengkulturan optimum.

Dari kajian ini menunjukkan bahawa suhu pengkulturan yang optimum bagi kajian ini adalah 55 C dengan hasil yang optimum iaitu 234ug/ml gula penurun, 7.92ug/ml protein larut dan 168.47 unit X 10^{-3} /ml aktiviti enzim selepas 32jam pengkulturan, berbanding dengan lain-lain suhu pengkulturan yang telah dikaji (Jadual 9).

3.8 Saiz inokulum yang optimum

Kajian yang telah dijalankan menunjukkan saiz inokulum yang optimum adalah satu coretan dengan hasil yang optimum selepas 32jam pengkulturan iaitu, 750ug/ml gula penurun, 205ug/ml protein larut dan 75.0 unit X 10^{-3} /ml aktiviti enzim berbanding dengan lain-lain saiz inokulum yang telah dikaji (Jadual 10).

4.0 PERBINCANGAN

Kajian ini menunjukkan substrat tepung ubi kayu pada kepekatan 10% (berat per isipadu) memberikan hasil yang optimum selepas 32jam pengkulturan. Walaupun kepekatan substrat 20% memberikan hasil yang tinggi juga tetapi peningkatan kepekatan substrat akan meningkatkan kos pengeluaran. Oleh itu, kepekatan 10% dipilih sebagai kepekatan yang optimum. Ini adalah kerana dalam sesuatu industri kos rendah untuk bahan mentah bagi media penghasilan adalah penting (Ratledge, 1977).

Selain dari itu, nilai pH 3.5 memberikan hasil yang optimum selepas 32jam pengkulturan iaitu 4820ug/ml gula penurun, 380ug/ml protein larut dan 14.80 unit X 10^{-3} /ml aktiviti enzim. Lain-lain pH yang diuji tidak memberikan aktiviti enzim yang tinggi. Oleh yang demikian, pengawalan pH adalah sangat penting untuk mendapatkan hasil enzim yang optimum. Ini bersesuaian dengan pendapat Stanbury & Whitaker (1984).

Kepekatan magnesium sulfat yang optimum pula adalah 0.20g/150ml kultur dengan memberikan aktiviti enzim yang tinggi iaitu 48.10 unit $\times 10^{-3}$ /ml, 408ug/ml protein larut dan 5800ug/ml gula penurun.

Kepekatan kalium hidrogen fosfat yang optimum adalah 0.10g/150ml kultur dengan hasil 12.13 unit $\times 10^{-3}$ /ml aktiviti enzim, 349ug/ml protein larut dan 300ug/ml gula penurun. Penentuan kepekatan magnesium sulfat dan kalium fosfat ini adalah penting oleh kerana fosfat merupakan sebahagian daripada komponen media yang memainkan peranan dalam mengimbangi pH media (Stanbury & Whitaker, 1984).

Sumber nitrogen telah ditunjukkan mempengaruhi corak fermentasi sesuatu produk. Rhodes (1963) telah menunjukkan kepekatan optimum sumber nitrogen bergantung kepada jenis fermenter yang digunakan. Dari itu kajian ini telah cuba mendapatkan kepekatan yang optimum sumber nitrogen amonium nitrat. Didapati 0.63g/150ml kultur adalah kepekatan yang optimum dengan menghasilkan 48.10 unit $\times 10^{-3}$ /ml aktiviti enzim, 742ug/ml protein larut dan 1410ug/ml gula penurun. Kajian bersesuaian dengan pendapat Rhodes (1963).

Penggunaan sumber karbon selalunya mempengaruhi pembentukan hasil. Pertumbuhan yang cepat selalunya dikaitkan dengan penghasilan metabolit sekunder yang rendah (Marshall *et. al.*, 1968). Ada ketikanya masalah ini diatasi dengan menggunakan sumber karbon yang lebih kompleks seperti ekstrak yis. Kajian yang dijalankan bersesuaian dengan pendapat ini, dimana ekstrak yis digunakan sebagai sumber karbon. Kajian ini menunjukkan 0.33g/150ml ekstrak yis adalah kepekatan yang optimum bagi penghasilan enzim oleh kulat A. niger.

Suhu pengkulturan yang optimum adalah perlu ditentukan untuk mendapatkan hasil enzim dengan aktiviti yang tinggi. Dari kajian ini didapati suhu yang paling optimum adalah 55 C dengan aktiviti enzim yang tinggi iaitu 168.47 unit $\times 10^{-3}$ /ml dan menghasilkan 7.92ug/ml protein larut serta 234ug/ml gula penurun. Walau pun protein yang dihasilkan adalah rendah pada suhu ini, tetapi aktiviti enzim adalah sangat tinggi berbanding dengan lain-lain suhu yang diuji. Hasil ini bersesuaian dengan kajian Fogarty (1983) yang mendapati bahawa suhu optimum untuk aktiviti enzim amilase daripada A. niger ialah 60 C dan suhu optimum untuk aktiviti enzim glukamilase daripada spesies yang sama adalah 70 C.

Dari kajian ini juga didapati saiz inokulum yang terkecil iaitu satu coretan telah memberikan hasil yang tinggi dengan aktiviti enzim yang tinggi. Ini bermakna kepekatan spora A. niger yang paling rendah mengeluarkan enzim yang paling tinggi. Manakala saiz inokulum yang paling besar (10 coretan) tiada enzim langsung. Dalam kultur tenggelam, inokulum dengan spora yang tinggi akan menyebabkan kekurangan pengudaraan, sumber karbon, nitrogen dan nutrien menyebabkan nutrien hanya untuk pertumbuhan bukan untuk penghasilan. Apabila kepekatan spora adalah rendah, sumber nutrien adalah mencukupi, maka ia boleh mengeluarkan hasil yang tinggi (Stanbury & Whitaker, 1984). Pendapat ini bersesuaian dengan hasil kajian yang telah dijalankan. Walau bagaimanapun, kepekatan spora yang digunakan dalam kajian ini adalah secara kualitatif sahaja. Adalah lebih baik sekiranya kepekatan spora ditentukan secara kuantitatif menggunakan mikroskop dan alat haemositometer.

5.0 KESIMPULAN

Berdasarkan kajian ini, beberapa parameter yang optimum untuk penghasilan enzim oleh kulat A. niger adalah 10% kepekatan substrat tepung ubi kayu (berat per isipadu), pengkulturan pada pH 3.5, 0.20g/150ml magnesium sulfat, 0.10g/150ml kalium hidrogen fosfat, 0.63g/150ml amonium nitrat, 0.33g/150ml ekstrak yis. Suhu pengkulturan optimum pula adalah 55 C dan saiz inokulum untuk kelalang goncangan adalah satu coretan sahaja. Parameter-parameter ini memberikan aktiviti enzim yang tinggi berbanding dengan lain-lain parameter yang telah dikaji.

Jadual 1: Komposisi media penghasilan bagi pengkulturan dalam kelalang goncangan.

Nutrien	g/150ml
NH ₄ NO ₃	0.63
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.20
KH ₂ PO ₄	0.10
Na ₃ PO ₄ .12H ₂ O	0.25
KCl	0.08
Ekstrak yis	0.33
Kanji	12.50
Air suling	111.00

Jadual 2: Komposisi larutan reagen DNS ()

Komponen	Berat(g)
Natrium hidroksida	10.0
Kalium Natrium Tartarat	182.0
Asid Dinitrofinolsalisalik(DNS)	10.0
Fenol	2.0
Natrium sulfat	0.5

Jadual 3 : Kesan kepekatan substrat tepong ubikayu yang berbeza keatas penghasilan enzim.

Jam Peng kulturan	Kepekatan substrat					
	0.0%	1.0%	5.0%	10.0%	15.0%	20.0%
Perubahan kandungan gula penurun (ug/ml) mengikut Pe kepekatan substrat yang digunakan.						
0	0	0	0	0	0	0
8	20	20	40	60	80	100
16	20	40	160	300	380	780
24	20	40	480	600	520	880
32	40	40	660	940	780	920
40	40	40	900	1240	720	1350
Perubahan kandunganprotein larut (ug/ml) mengikut kepekatan substrat yang digunakan.						
0	0	0	0	0	0	0
8	376	358	386	374	384	406
16	290	292	324	310	320	342
24	119	138	294	358	374	372
32	136	140	448	490	502	468
40	196	200	395	403	405	389
Perubahan aktiviti enzim terhasil(unitX10- 3/ml)mengikut kepekatan substrat yang digunakan.						
0	0	0	0	0	0	0
8	0.18	0.10	0.15	0.20	0.36	0.96
16	0.17	0.55	3.61	4.00	0.93	2.96
24	0.18	0.56	5.60	6.01	4.23	5.18
32	0.18	0.25	6.80	8.23	8.50	3.70
40	0.18	0.21	7.86	8.80	6.30	2.78

Jadual 4: Kesan pH yang berbeza keatas penghasilan enzim

Jam Peng kulturan	Nilai pH					
	7.0	4.5	4.0	3.5	3.0	2.5
Perubahan kandungan gula penurun (ug/ml) mengikut nilai pH pengkulturan						
0	0	0	0	0	0	0
8	140	180	160	260	200	280
16	300	50	1040	2500	3760	4960
24	300	140	1240	4900	3660	5000
32	180	50	1250	4820	4920	5060
40	330	280	5000	5000	4960	2800
Perubahan kandungan protein larut (ug/ml) mengikut nilai pH pengkulturan						
0	0	0	0	0	0	0
8	334	328	342	358	354	190
16	356	194	250	380	274	244
24	388	240	332	390	354	318
32	392	250	302	380	310	310
40	452	258	386	406	394	374
Perubahan aktiviti enzim (unitX10-3/ml) mengikut nilai pH pengkulturan						
0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
16	2.78	0	3.70	12.02	5.55	1.85
24	0.46	0	3.70	14.80	5.55	7.40
32	0	0	11.10	7.40	10.10	5.55
40	0	0	22.20	6.48	13.70	9.25

Jadual 5 : Kesan kepekatan magnesium sulfat keatas penghasilan enzim.

Jam peng kulturan	Kepekatan magnesium sulfat(g/150ml)					
	0.0	0.05	0.10	0.20	0.30	0.40
Perubahan kandungan gula penurun (ug/ml) mengikut kepekatan magnesium sulfat.						
0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	210	240	280	320
16	180	200	360	6900	700	440
24	260	340	400	5800	4000	2300
32	60	30	240	1860	2440	1540
40	20	20	180	1020	2000	770
Perubahan kandungan protein larut (ug/ml) mengikut kepekatan magnesium sulfat.						
0	0	0	0	0	0	0
8	246	236	240	250	242	240
16	132	144	162	406	194	168
24	216	218	258	408	348	296
32	214	190	240	456	402	326
40	172	176	192	420	380	398
Perubahan aktiviti enzim (unit X 10 ⁻³ /ml) mengikut kepekatan magnesium sulfat.						
0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	1.85	1.85	0	0
16	0	0	1.85	33.30	1.85	1.85
24	3.70	3.70	9.25	48.10	37.0	24.05
32	4.36	3.70	9.25	37.00	18.50	20.35
40	1.85	1.85	3.70	9.25	9.25	9.25

Jadual 6: Kesan kepekatan kalium hidroksida fosfat keatas penghasilan enzim.

Jam Peng kulturan	Kepekatan kalium hidroksida fosfat (g/150ml)					
	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.30
Perubahan kandungan gula penurun (ug/ml) mengikut kepekatan kalium hidroksida fosfat .						
0	0	0	0	0	0	0
8	0	20	40	40	40	50
16	60	200	250	260	240	290
24	100	240	300	320	320	300
32	80	120	280	280	290	250
40	40	80	260	240	250	200
Perubahan kandungan protein larut (ug/ml) mengikut kepekatan kalium hidroksida fosfat.						
0	0	0	0	0	0	0
8	200	240	248	228	242	250
16	132	160	158	146	168	150
24	240	360	348	358	340	350
32	220	300	350	370	310	336
40	200	218	298	308	286	260
Perubahan aktiviti enzim (unitX 10-3/ml) mengikut kepekatan kalium hidroksida fosfat.						
0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0.67	0.60	0.73	0.65
16	1.85	1.90	1.85	1.90	1.85	1.85
24	2.95	3.00	12.13	10.90	11.52	12.02
32	1.85	1.85	9.25	8.25	9.25	9.10
40	1.85	1.85	4.52	4.60	5.06	4.87

Jadual 7: Kesan kepekatan amonium nitrat yang berbeza keatas penghasilan enzim.

Jam peng kulturan	Kepekatan amonium nitrat (g/150ml)				
	0.0	0.23	0.43	0.63	0.83
Perubahan kandungan gula penurun (u9/ml) mengikut kepekatan amonium nitrat.					
0	0	0	0	0	0
8	190	326	523	745	556
16	208	326	672	700	655
24	305	367	765	765	723
32	362	452	295	410	554
40	366	562	277	580	324
Perubahan kandungan protein larut (ug/ml) mengikut kepekatan amonium nitrat.					
0	0	0	0	0	0
8	104	126	282	361	290
16	146	187	302	480	310
24	168	208	348	560	354
32	242	262	325	742	320
40	256	232	340	652	309
Perubahan aktiviti enzim (unit X 10 ⁻³ /ml) mengikut kepekatan amonium nitrat.					
0	0	0	0	0	0
8	6.25	9.3	6.25	10.64	3.75
16	8.74	13.52	6.86	20.56	3.96
24	10.21	14.6	7.56	55.65	10.66
32	15.62	12.62	11.25	48.10	12.80
40	9.25	12.01	5.85	9.25	9.48

Jadual 8: Kesan kepekatan ekstrak yis sebagai sumber karbon keatas penghasilan enzim.

Jam peng kulturan	Kepekatan ekstrak yis (g/150ml)				
	0.0	0.13	0.33	0.53	0.73
Perubahan kandungan gula penurun (ug/ml) mengikut kepekatan ekstrak yis.					
0	0	0	0	0	0
8	233	656	766	545	566
16	298	683	798	656	632
24	342	692	1488	756	672
32	468	432	1556	843	748
40	356	345	800	526	564
Perubahan kandungan protein larut (ug/ml) mengikut kepekatan ekstrak yis.					
0	0	0	0	0	0
8	168	246	301	206	205
16	182	258	358	238	242
24	202	287	462	342	258
32	242	256	472	381	292
40	225	202	302	206	196
Perubahan aktiviti enzim (unit X 10 ⁻³ /ml) mengikut kepekatan ekstrak yis.					
0	0	0	0	0	0
8	4.62	5.42	10.23	9.52	9.48
16	4.92	6.52	32.68	10.62	9.92
24	5.63	7.83	48.52	10.92	10.52
32	5.78	8.43	52.61	11.56	10.86
40	5.66	5.63	6.52	7.58	5.58

Jadual 9: Kesan suhu pengkulturan yang berbeza keatas penghasilan enzim.

Jam pengkulturan	Suhu pengkulturan			
	35 C	45 C	55 C	65 C
Perubahan kandungan gula penurun (ug/ml) mengikut suhu pengkulturan				
0	0	0	0	0
8	11.60	36.13	232	2.63
16	7.50	7.20	255	7.88
24	8.25	12.40	234	3.34
32	18.75	28.90	58	33.75
40	4.50	25.90	367	27.75
Perubahan kandungan protein larut (ug/ml) mengikut suhu pengkulturan.				
0	0	0	0	0
8	4.35	4.11	2.82	25.18
16	10.65	7.02	7.82	14.78
24	18.96	8.23	7.92	9.68
32	23.72	6.94	7.34	37.85
40	6.21	7.66	3.63	22.84
Perubahan aktiviti enzim (unit X 10 ⁻³ /ml) mengikut suhu pengkulturan.				
0	0	0	0	0
8	0.43	7.56	136.10	2.16
16	0.86	4.32	141.47	5.40
24	3.88	4.32	168.47	3.24
32	16.14	5.40	71.28	6.48
40	2.80	27.00	105.84	3.24

Jadual 10: Kesan saiz inokulum yang berbeza keatas penghasilan enzim oleh A. niger.

Jam peng kulturan	Saiz inokulum (bilangan coretan)			
	1	3	5	10
Perubahan kandungan gula penurun (ug/ml) mengikut saiz inokulum.				
0	0	0	0	0
8	12.50	2.75	5.00	20.00
16	17.5	16.25	8.75	6.25
24	7.50	6.25	21.20	3.50
32	6.25	5.32	6.20	2.50
40	6.34	2.50	4.26	1.25
Perubahan kandungan protein larut (ug/ml) mengikut saiz inokulum.				
0	0	0	0	0
8	24.00	0	0	0
16	26.50	0	0.90	0.90
24	20.50	2.90	0.50	0.50
32	6.40	1.70	1.10	0.30
40	4.90	1.40	1.00	1.10
Perubahan aktiviti enzim (unit X 10 ⁻³ /ml) mengikut saiz inokulum.				
0	0	0	0	0
8	117.5	7.5	0	0
16	35.0	27.5	0	0
24	75.0	0	7.5	15.5
32	80.0	0	0	0
40	45.0	0	0	0

RUJUKAN

- Beynum G.M.A. Van & J.A. Roels (1985). Starch conversion technology, Marcel Dekker, Inc. New York & Basel: 15-120.
- Fogarty W.M. (1983). Microbial Enzymes and Biotechnology. Applied Science Publishers, London & New York : 47-55.
- Ratledge, C. (1977). Fermentation substrates. Ann. Rep. Ferm. Process, 1: 49-71.
- Stanbury P.F. & A. Whitaker (1984). Media for industrial fermentation. In Principles of Fermentation Technology. Pergamon Press. N.York.:74-90.